

die beschriebenen Effekte unseres Wissens den ersten Fall der Beobachtung einer direkten Wirkung des Diphtherietoxins auf ein Stoffwechselsystem außerhalb des Organismus darstellen (vgl. *Peters*<sup>8</sup>, *Schlechter*<sup>9</sup>). Eine weitergehende Deutung der Resultate soll an dieser Stelle nicht versucht werden; sie berechtigen unserer Meinung zur Zeit nur zu der einzigen Schlußfolgerung, daß *ein Angriffspunkt des Diphtherietoxins im Glykolyseteil des Kohlehydratstoffwechsels liegt.*

## Beeinflussung der Ultraviolettabsorption von menschlichem Sehnenkollagen durch Hydrolyse.

(Kurze Mitteilung.)

Von

**E. Schauenstein.**

Aus dem Institut für theoretische und physikalische Chemie  
der Universität Graz.

(Eingelangt am 19. März 1951. Vorgelegt in der Sitzung am 12. April 1951.)

Für die Kenntnis der Eigenschaften und Struktur des in späteren Arbeiten eingehend zu untersuchenden Hyalin erwies es sich als unerlässlich, die hydrolytische Spaltung von normalem Sehnenkollagen zu untersuchen. Die hydrolytische Spaltung zeigt sich nämlich als eine der wichtigsten Methoden zur Untersuchung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung von Faserproteinen. Diese weisen eine mehr oder minder intensive Absorption ihres Peptidgerüsts, genauer gesagt, der enolisierten Peptidgruppen auf<sup>1</sup>, die so stark sein kann, daß die typische Eigenabsorption der chromophoren Aminosäuren mehr oder minder verdeckt wird<sup>2</sup>.

Dies ist bei Kollagen tatsächlich der Fall und man muß daher, um Aufschluß über die Aminosäurezusammensetzung zu erhalten, die Gerüstabsorption zum Verschwinden bringen, das heißt, das Peptidgerüst möglichst weitgehend zerstören. Dies wurde mit folgenden Mitteln erreicht:

### 1. Pepsin—Salzsäure.

Kollagen löst sich darin erwartungsgemäß praktisch restlos auf und die Absorption bleibt im kurzwelligen Gebiet praktisch unverändert, sinkt aber im längerwelligen UV. beträchtlich ab.

<sup>8</sup> *Biochemic. J.* **35**, 219 (1941).

<sup>9</sup> *Riv. ist. sieroterap. ital.* **24**, 10 (1949); *Chem. Abstr.* **43**, 9152 (1949).

<sup>1</sup> *E. Schauenstein* und *D. Stanke*, *Makromolek. Chem.* **5**, 262 (1951). — *O. Kraiky* und *E. Schauenstein*, *Z. Naturforsch.* **5 b**, 281 (1950).

<sup>2</sup> *E. Schauenstein*, *M. Hoehenegger* und *M. Walzel*, *Z. Biol.* (1951), im Druck.

2. Pankreatin in Phosphatpuffer pH 7,8.

Natives Kollagen ist gegen Pankreatin resistent und wird erst nach 1/2stündigem Behandeln mit kochendem Wasser angegriffen. Die an den Lösungen erhobenen spektrographischen Befunde decken sich praktisch mit den unter 1 mitgeteilten.

In beiden Fällen ermöglicht das Spektrum die Aussage, daß die Fermentwirkung nur zu einem sicher sehr geringen Anteil die Peptidbindungen sprengt, *vielmehr jedoch zum überwiegenden Teil in einer Spaltung der zwischenmolekularen Wasserstoffbrücken besteht.*

3. Salzsäure-Hydrolyse unter Druck<sup>3</sup>.

0,7%ige bis konz. Salzsäure bei 175° im Bombenrohr — 6 Stdn.

Die Lösungen zeigen nicht nur ein Absinken im Gebiet zwischen 2500 bis 3600  $\nu'$ , sondern nunmehr auch im kurzwelligen UV. bis zu 4500  $\nu'$ . Diese Ergebnisse lassen nun einerseits auf eine weitere Sprengung zwischenmolekularer Wasserstoffbrücken, andererseits aber auch auf eine peptische Spaltung schließen.

Es ist besonders für die Beurteilung der Intensität der Peptidgerüstabsorption bemerkenswert, daß erst bei dem mit konz. Salzsäure hydrolysierten Kollagen die charakteristische Aminosäureabsorption einigermaßen deutlich in Erscheinung tritt. Sie liegt damit z. B. im Absorptionsgebiet des Phenylalanins rund um eine Zehnerpotenz in der Extinktion tiefer als die Absorption des Nativpräparats.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Chibnall*<sup>4</sup> ergibt das Spektrum des mit konz. Salzsäure abgebauten Kollagen die Abwesenheit von Tyrosin und Tryptophan.

Tabelle 1.

Menschliches Sehnenkollagen	Spez. Ext. Koeffizient $\epsilon'$		Verschiebung des kurzwelligen Astes gegen kürzere Wellen
	bei 3600 $\nu'$	bei 3880 $\nu'$ <sup>5</sup>	
Nativ: pH 5—7 .....	3,80	4,75	—
pH 1 .....	1,82	2,09	—
Abbau mit:			
1. Pepsin-HCl .....	1,62	1,66	—
2. Trypsin .....	1,62	1,66	—
Druckhydrolyse in HCl:			
0,7% .....	1,26	1,62	100 $\nu'$
7,0% .....	0,69	1,09 <sup>6</sup>	100 $\nu'$
konz. ....	0,51	1,00 <sup>6</sup>	100 $\nu'$
Modellspektrum .....	0,10	0,55 <sup>6</sup>	30 $\nu'$

<sup>3</sup> N. D. Zelinsky und W. S. Ssadikow, Biochem. Z. 136, 241 (1923).

<sup>4</sup> A. C. Chibnall, Proct. Mem. Lect. (1946).

<sup>5</sup> Absorptionsgebiet von Phenylalanin, mit 2,4% im Kollagen anwesend.

<sup>6</sup> Feinstruktur.

Die Untersuchungen werden an anderer Stelle ausführlich publiziert werden.

Ich erlaube mir, der Österreichischen Gesellschaft für Krebsforschung für tatkräftige finanzielle Unterstützung ergebenst zu danken. Außerdem bin ich Herrn Professor Dr. *O. Kratky* für sein förderndes Interesse an unseren Arbeiten und Herrn Doz. Dr. *Ratzenhofer* für die liebenswürdige Beistellung der Präparate dankbar.